临床研究

羊膜腔穿刺对母婴HBV垂直传播的meta分析

李桃源[1],何　京[1],卢永平[1, 2, 3],梁旭竞[1],HOCHER Berthold[1, 2, 3],陈友鹏[1]

[1]暨南大学附属第一医院感染科,广东　广州　510630;[2]Department of Nephrology, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte, Berlin Germany; [3]Department of Experimental Nutritional Medicine, Institute for Nutritional Science, University of Potsdam, Potsdam 14558, Germany

摘要:目的 母婴乙肝病毒垂直传播已成为我国乙肝病毒感染的主要途径,本研究分析乙肝病毒感染的孕妇进行羊膜腔穿刺是否增加母婴垂直传播的风险。**方法** 搜索1990年1月1日~2016年3月15日之间在Pubmed、Embase、谷歌学术和万方数据库等数据库中所有关于乙肝孕妇行羊膜腔穿刺对母婴垂直传播影响的相关英文或中文文章,根据纳入剔除标准对文章进行筛选,然后对文章治疗评分,最后有4篇文章纳入,共有3997孕妇,其中实验组167名、对照组3830名,使用Review Manager Version 5.0进行数据分析。**结果** 荟萃分析结果显示,进行羊膜腔穿刺术与不行羊膜腔穿刺术两组婴儿HBsAg阳性率无明显差异(R^2=1.37, 95% CI: 0.70~2.69, P=0.36)。当孕妇是HBV-DNA≥10^7 copies/mL、HBeAg阳性时,进行羊膜腔穿刺术后胎儿宫内感染风险增加(R^2=9.54, 95% CI: 3.52~25.85, P<0.0004; R^2=3.41, 95% CI: 1.05~11.13, P=0.04)。**结论** 孕妇HBV-DNA≥10^7 copy/mL和(或)HBeAg阳性时将增加母婴垂直传播的风险。

关键词: 羊水穿刺;母婴垂直传播;慢性乙型肝炎;乙型肝炎病毒;荟萃分析

Meta analysis of mother-to-child transmission of HBV by amniocentesis

LI Taoyuan[1], HE Jing[1], LU Yongping[1, 2, 3], LIANG Xujing[1], HOCHER Berthold[1, 2, 3], CHEN Youpeng[1]

[1]Department of Infectious Diseases, the first Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510630, China; [2]Department of Nephrology, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte, Berlin Germany; [3]Department of Experimental Nutritional Medicine, Institute for Nutritional Science, University of Potsdam, Potsdam 14558, Germany

Abstract: Objective To explore if amniocentesis in pregnant with HBV infection carriers will increase the risk of mother-to-child transmission(MTCT). **Methods** All relevant published papers and abstracts of English and Chinese were searched by the key words such as hepatitis B virus/HBV, amniocentesis, vertical/mother-to-child transmission in Pubmed (MEDLINE), Embase, Google scholar and Wanfang database between January 1 1990 and March 15 2016. Four papers with 3997 pregnant women including 167 amniocentesis cases and 3830 control cases were entered to this analysis. The analysis was performed by statistical software Review Manager Version 5.0. **Results** The meta-analysis showed that there was no significant difference of infant's HBsAg-positive rate between two groups of mothers who underwent amniocentesis or no amniocentesis (R^2=1.37, 95% CI: 0.70~2.69, P=0.36). It increased the risk of MCTC of HBV if amniocentesis was performed in pregnant women with serum HBV-DNA≥10^7 copies/mL (R^2=9.54, 95% CI: 3.52~25.85, P<0.0004) and/or HBeAg-positivity (R^2=3.41, 95% CI: 1.05~11.13, P=0.04). **Conclusion** Amniocentesis in pregnant women with serum HBV-DNA ≥10^7 copies/mL and/or HBeAg-positivity would increase the risk of MTCT in HBV infection.

Keyword: amniocentesis; mother to child transmission; chronic hepatitis B; HBV; meta-analysis

乙肝病毒(HBV)感染是一个严重的全球性健康问题,全球3.5~4.0亿人感染HBV[1-2]。每年约60万人死于肝脏相关的并发症,如急性肝功能衰竭、肝硬化和原发性肝癌[3]。我国是慢性HBV感染高发流行地区,2006年全国流行病学调查表明,我国1~59岁一般人群HBsAg携带率为7.18%。我国现有慢性HBV感染者约9300万,其中CHB患者约有2000万。有30%~50%的慢性HBV感染是通过母婴传播所致的,发生感染的年龄越小,成为慢性HBV携带者的概率越高[4]。在亚洲国家,围产期传播或垂直传播是HBV感染最常见的传播途径[5]。因此,阻断HBV母婴垂直传播(MTCT)是减少新发HBV感染最有力的措施之一。联合使用乙型肝炎疫苗和HBIG对新生儿进行主动-被动双重免疫,可有效减少HBV的母婴垂直传播,但由于宫内感染,仍有5%~10%的新生儿免疫失败[6]。羊水穿刺又称羊膜腔穿刺术,是在B超引导下抽取孕妇羊水标本,羊水细胞是来自胎儿的脱落细胞,和胎儿具有相同的遗传信息。通常在孕14~20周时进行,已成为围产医学临床上不可缺少的一种手段,应用范

收稿日期:2017-04-27

基金项目:广东省科技计划基金(2014A020212220);广州市科技计划基金(201510010027);暨大短期外专校级重点项目(2017-XJZD008)

作者简介:李桃源,在读硕士研究生,E-mail: 409720602@qq.com

通信作者:陈友鹏,教授,主任医师,博士生导师,E-mail: youpeng.chen@163.com

围越来越广，主要用于胎儿染色体异常诊断、遗传性代谢病的出生前诊断、遗传性分子病的出生前诊断、胎儿先天畸形诊断等[7-9]。本文旨在研究为慢乙肝孕妇或乙肝携带者孕妇在羊膜腔穿刺术后胎儿宫内感染的风险是否增加，并对将来临床工作提供相关依据。

1 研究方法

1.1 搜索方法

2名研究者检索文献，检索词"羊水/羊膜腔穿刺，乙型肝炎/乙肝病毒，宫内/产前，母婴传播/母婴阻断/垂直传播；hepatitis B virus/HBV，Amniocentesis，vertical/mother-to-child transmission"。检索1990年1月1日~2016年3月15日Pubmed、Embase、谷歌学术和万方数据库相关英文或中文文章，纳入回顾性或前瞻性临床研究，查找其他会议和学位论文(图1)。

1.2 文献纳入排除标准

纳入标准：(1)孕妇均HBsAg持续阳性6月以上，肝功能正常，无任何临床症状和体征的孕妇，进行或不进行羊水穿刺操作的对照实验；(2)妊娠期间未接受抗病毒或免疫治疗；(3)妊娠前未合并高血压、糖尿病、心脏病的相关疾病，无吸烟饮酒史；(4)胎儿出生后行乙肝免疫球蛋白和乙肝疫苗注射；(5)采用酶联免疫吸附法测定HBsAg，宫内传播指标为新生儿外周静脉血HBsAg阳性，并持续至出生后7个月(表1)。

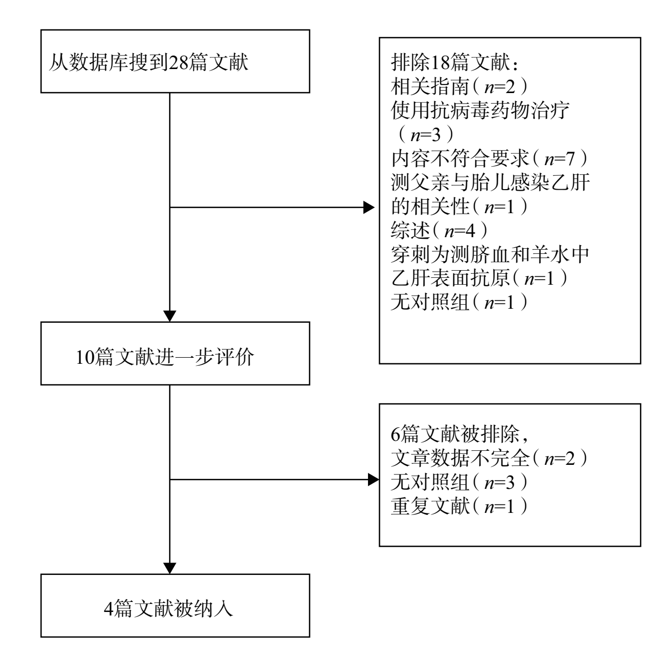


图1 文献纳入与排除流程图

剔除标准：(1)未设置对照组；(2)干预措施不明确；(3)妊娠期间使用相关药物抗病毒或其他药物(如免疫调节、细胞毒性等药物)；(4)合并其他病毒感染(如甲、丙、丁、戊病毒性肝炎，HIV病毒)；(6)综述；(7)病理报告即流行病学报道；(8)重复文献；(9)其他语言(如俄文、荷兰文)。

表1 纳入文献基本信息

第一作者，发表年份	治疗		新生儿免疫		新生儿HBV感染率			
	羊水穿刺组	对照组	HBIG U	乙肝疫苗(μg)	HBsAg阳性		HBV DNA阳性	
					24 h	6~12个月	24 h	6~12个月
Ko[8] 1994	肝功能正常，6个月内未接受抗病毒或免疫治疗的单胎孕妇，具备侵入性产前诊断指征，知情同意接受羊膜腔穿刺术	未进行羊水穿刺，HBV DNA拷贝数无限制	产后6 h内及产后1个月，200 U/次	产后0、1、6月，10 μg/次	1/35:2/65	3/32:380/3454	—	—
郝(hao)[9] 2011	肝功能正常，6个月内未接受抗病毒或免疫治疗的单胎孕妇，具备侵入性产前诊断指征，知情同意接受羊膜腔穿刺术	未进行羊水穿刺，HBV DNA阴性的HBV感染孕妇	产后6 h内及产后1个月，200 U/次	产后0、1、6个月，20 μg/次	0/31:0/43	0/31:0/43	0/31:0/43	0/31:1/43
Yi[10] 2014	肝功能正常，6个月内未接受抗病毒或免疫治疗的单胎孕妇，具备侵入性产前诊断指征，知情同意接受羊膜腔穿刺术	未进行羊水穿刺，HBV DNA拷贝数无限制	产后6 h内及产后1个月，200 U/次	产后0、1、6个月，10 μg/次	11/63:47/198	4/63:5/198	3/63:11/198	—
陈(chen)[11] 2014	肝功能正常，6个月内未接受抗病毒或免疫治疗的单胎孕妇，具备侵入性产前诊断指征，知情同意接受羊膜腔穿刺术	未进行羊水穿刺，HBV DNA拷贝数无限制	产后6 h内及产后15 d，200 U/次	产后0、1、6个月，10 μg/次	—	—	—	3/41:4/137

1.3 信息提取及文献质量评价

文献由2名研究者分别阅读文献的标题、摘要进行初筛，根据纳入与排除标准阅读全文确定入选，并进行文献质量评价、资料提取，不同意见讨论解决资

料提取内容包括：第一作者、发表时间、刊名和卷期页、研究对象干预措施及例数，对照组例数，两组新生儿出生时和6个月及1岁时HBsAg阳性的例数。文献的质量评价根据NEWCASTLE-OTTAWA（NOS）文献质量评价量表评分，质量好的文章可得最高分9分，最低分为5分（表2）。研究文献方法学质量由Cochrane Collaboration's tool评价（表3）。

表2 入组病例对照研究文章根据NEWCASTLE-OTTAWA（NOS）文献质量评价量表评分情况

第一作者，发表年份	选择				可比性	结局			总分
	暴露队列代表性	非暴露组选择	暴露的确定	研究前研究对象发生结局事件	控制1个重要混杂因素（1分）控制2个或以上（2分）	结局事件的评估	随访是否充分	随访完整性	
Ko 1994	0	0	1	1	0	1	1	1	5
郝(hao)2011	1	1	1	1	0	1	1	1	7
Yi 2014	1	1	1	1	2	1	1	1	9
陈(chen) 2014	1	1	1	1	0	1	1	1	7

表3 文献方法学质量评价

第一作者，发表年份	随机方法	隐蔽分组	盲法	不完整治疗	选择性报告偏移	其他偏移来源
Ko 1994	否（根据患者意愿）	否	否	完整	否	否
郝(hao)2011	否（根据患者意愿）	否	否	完整	否	否
Yi 2014	否（根据患者意愿）	否	否	完整	否	否
陈(chen) 2014	否（根据患者意愿）	否	否	完整	否	否

1.4 数据统计

提取入选的文章数据，并使用Review Manager Version 5.0进行分析。数据通过Matel-Haenszel方法检验。在异质性分析中，如果文献之间无异质性（P>0.1，I^2≤50%），用固定效应模型；如果文献间存在异质性（P< 0.1，I^2>50%），则采用随机效应模型；若导致文献间异质性的因素已知，采用亚组分析。有效性分析定义P<0.05。

2 结果

文献纳入按照本研究纳入标准，共检索到文献28篇，剔除不符合标准文献，可以采用文献4篇。其中有3篇文献在新生儿出生时采集了外周静脉血进行HBsAg检测，4篇文献均在新生儿7个月~5岁时采集了外周静脉血进行了HBsAg检测（表1），纳入病例情况见表4。

表 4 文献的基本情况

编号	作者	干预组样本	对照组样本
1	Ko	32	3454
2	郝	31	47
3	Yi	63	198
4	陈	41	137

2.1 羊水穿刺对婴儿HBsAg阳性率的分析

有4篇文献符合纳入标准。其中实验组例167例，对照组3830例。经RevMan分析软件对纳入文献进行异质性检验及统计学分析后得到文献间没有异质性（I^2=0%，P =0.43），采用固定效应模型进行分析。羊水穿刺实验组与对照组婴儿HBsAg阳性率无明显差异（R^2= 1.37，95% CI：0. 70~2.69，P =0.36，图2）。

2.2 孕妇乙肝DNA定量对婴儿HBsAg阳性率的亚组分析

根据文章提供的数据，其中行羊水穿刺组94例，对照组271例，经数据分析结果显示孕妇外周血HBV-DNA<10^7 copies/mL时，不增加母婴垂直传播率（P=0.48）。但孕妇外周血HBV-DNA≥10^7 copy/mL时，行羊水穿刺则更易产生母婴间乙肝的垂直传播（R^2=9.54，95% CI：3.52~25.85，P<0.0004，图3）。

2.3 孕妇HBeAg阳性对婴儿HBsAg阳性率的亚组分析

孕妇HBeAg阳性行穿刺的36例，对照组145例。孕妇HBeAg阴性行羊水穿刺68例，未行135例。分析后得e抗原阴性对母婴传播乙肝无影响（P=0.12），但若孕妇为e抗原阳性母亲，则增加了胎儿被传染乙肝的概率（R^2=3.41，95% CI：1.05~11.13，P=0.04，图4）。

3 讨论

本次荟萃分析发现，如果血清HBV-DNA≥10^7 copies/mL、HBeAg阳性时慢乙肝/HBV携带孕妇进行羊膜腔穿刺术后，胎儿宫内HBV感染风险将增加。而羊膜腔穿刺术在HBV携带孕妇人群中、孕妇外周血HBV-DNA<10^7 copies/mL、HBeAg阴性等因素对胎儿宫内感染的影响差异无统计学意义。

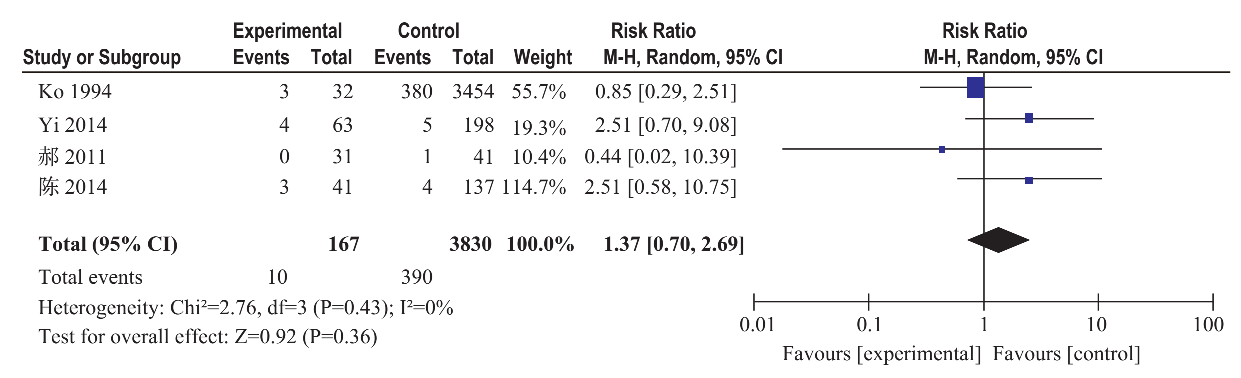


图2 胎儿HBsAg阳性率分析

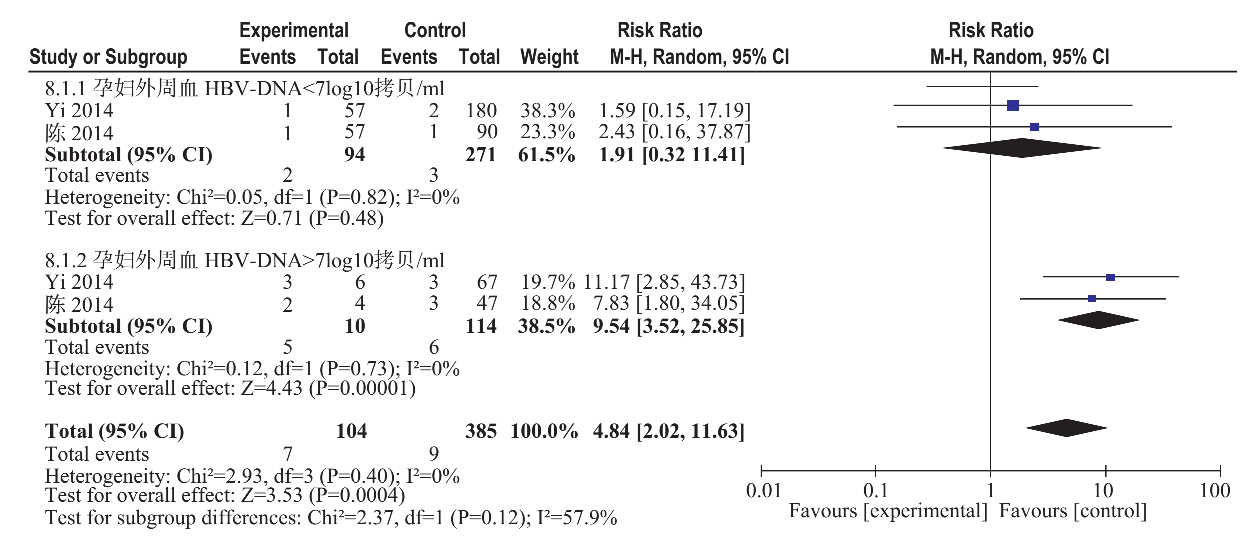


图3 母亲外周血HBV-DN≥10^7 copies/ml时MTCT风险更高

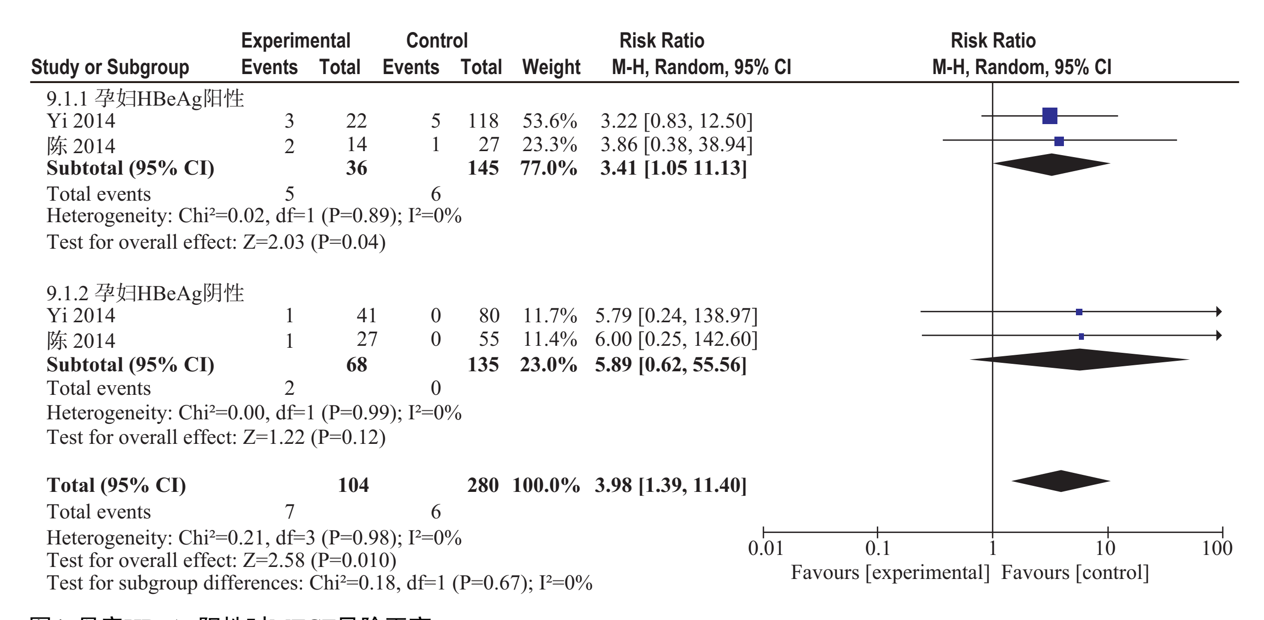


图4 母亲HBeAg阳性时MTCT风险更高

目前包括乙肝免疫球蛋白和乙肝疫苗的被-主动免疫预防方案对分娩时在HBV中暴露的婴儿很有效，其中乙肝免疫球蛋白在出生后2次完成，乙肝疫苗在出生后6个月内完成[10-12]。然而仍有10%的婴儿未能免疫成功[13-14]。173名HBV感染孕妇妊娠期行羊膜腔穿刺，随访产后婴儿6个月时HBsAg阳性情况，MTCT为7.14%，与既往研究的MTCT作比对并无差异[15]。早在1994年Grosheide等[16]对17名HBsAg阳性的孕妇行羊水穿刺，其中有两名孕妇HBeAg阳性，出生后小孩均未出现HBsAg阳性情况，说明羊水穿刺对MTCT影响低，但并不能说明HBeAg状态对MTCT是否有影响。1999年Alexander等[17]进行相关研究，

同样得出羊水穿刺未增加MTCT的风险。对行羊膜腔穿刺的40例HBeAg阳性孕妇及其子女进行统计，37例HBsAg阳性、HBeAg阴性孕妇的子代无一例表面抗原为阳性，乙型肝炎核心抗体亦均阴性，说明对于HBeAg阴性孕妇，羊膜腔穿刺不增加其子代感染HBV的风险。另外，3例HBsAg和HBeAg同时阳性孕妇的子代HBsAg和抗-HBc均阴性，但是例数太少，无统计意义[18]。

Towers等[19]对47名HBsAg阳性的孕妇行羊水穿刺抽取羊水以及分娩时抽取胎儿脐带血，发现羊水中可测的HBsAg，但分娩时脐带血中却未发现HBV DNA，提示HBsAg可以穿透胎盘屏障，但所传播的病毒是不完整的病毒颗粒，进一步也说明了乙肝孕妇行羊水穿刺不会传播HBV DNA给胎儿。此外，有研究对母亲外周血HBV DNA与羊水HBV DNA进行logistic回归，发现两者无相关性[20]。

穿刺方式可分为经胎盘穿刺及未经胎盘穿刺。经胎盘穿刺羊水标本(16例)HBsAg和HBV DNA阳性率看上去高于未经胎盘穿刺者(32例)，但其差异无统计学意义[18]。另一研究得出了同样的结论，33例经胎盘穿刺的孕妇羊水HBV DNA 3例阳性，65例未经胎盘穿刺的孕妇羊水HBV DNA同样是3例阳性(P>0.5)羊水HBV DNA阳性率无统计学意义[20]。

在本次荟萃分析中，进行羊水穿刺对所有HBV感染孕妇的母婴垂直传播无明显统计学差异，虽然慢性乙型肝炎/乙型肝炎携带者孕妇可以行羊水穿刺，但是当孕妇HBV DNA≥10^7 copies/mL和(或)HBeAg阳性时，可增加MTCT发生，因此对于高风险孕妇进行此项操作，需权衡利弊，以减少HBV母婴垂直感染的发生。

参考文献:

[1] Han GR, Cao MK, Zhao W, et al. A prospective and open-label study for the efficacy and safety of telbivudine in pregnancy for the prevention of perinatal transmission of hepatitis B virus infection[J]. J Hepatol, 2011, 55(6): 1215-21.

[2] Beasley RP, Hwang LY, Lee GC, et al. Prevention of perinatally transmitted hepatitis B virus infections with hepatitis B immune globulin and hepatitis B vaccine[J]. Lancet, 1983, 2(8359): 1099-102.

[3] Durandy A. Development of the immune system[J]. Infect Dis Obstet Gynecol, 1997, 5(2): 93-7.

[4] Xu DZ, Yan YP, Zou S, et al. Role of placental tissues in the intrauterine transmission of hepatitis B virus[J]. Am J Obstet Gynecol, 2001, 185(4): 981-7.

[5] Tong MJ, Pan CQ, Hann HW, et al. The management of chronic hepatitis B in Asian Americans[J]. Dig Dis Sci, 2011, 56(11): 3143-62.

[6] Bai GQ, Li SH, Yue YF, et al. The study on role of peripheral blood mononuclear cell in HBV intrauterine infection[J]. Arch Gynecol Obstet, 2011, 283(2): 317-21.

[7] 黄艳仪, 杜红姿, 黄 青. 羊膜腔穿刺术的临床应用[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2000, 16(8): 458-9.

[8] Ko TM, Tseng LH, Chang MH, et al. Amniocentesis in mothers who are hepatitis B virus carriers does not expose the infant to an increased risk of hepatitis B virus infection[J]. Arch Gynecol Obstet, 1994, 255(1): 25-30.

[9] 郝建珍, 胡玉红, 易 为, 等. 羊水穿刺对HBV DNA阴性的慢性乙型肝炎病毒感染孕妇母婴垂直传播的影响[J]. 中华妇产科杂志, 2011, 46(10): 778-9.

[10] Yi W, Pan CQ, Hao J, et al. Risk of vertical transmission of hepatitis B after amniocentesis in HBs antigen-positive mothers[J]. J Hepatol, 2014, 60(3): 523-9.

[11] 陈映婷, 潘 丽, 苏 文. 乙肝病毒携带孕妇羊膜腔穿刺术后胎儿宫内感染的风险[J]. 妇产与遗传:电子版, 2014, 4(2): 36-40.

[12] Home C. Assessing completeness of perinatal hepatitis B virus infection reporting through comparison of immunization program and surveillance Data-United states[J]. Morbid Mortal Week Rep, 2011, 60(13): 410-3.

[13] Zou H, Chen Y, Duan Z, et al. Virologic factors associated with failure to passive-active immunoprophylaxis in infants born to HBsAg-positive mothers[J]. J Viral Hepat, 2012, 19(2): e18-25.

[14] Wiseman E, Fraser MA, Holden S, et al. Perinatal transmission of hepatitis B virus: an Australian experience[J]. Med J Aust, 2009, 190(9): 489-92.

[15] 文晓燕, 李 扬, 次玲娟, 等. 羊膜腔穿刺术对乙肝母婴阻断影响的研究[J]. 临床医药实践, 2016, 25(7): 502-5.

[16] Grosheide PM, Quartero HW, Schalm SW, et al. Early invasive prenatal diagnosis in HBsAg-positive women[J]. Prenat Diagn, 1994, 14(7): 553-8.

[17] Alexander JM, Ramus R, Jackson G, et al. Risk of hepatitis B transmission after amniocentesis in chronic hepatitis B carriers[J]. Infect Dis Obstet Gynecol, 1999, 7(6): 283-6.

[18] 冯 静, 李 洁, 刘景丽, 等. 羊膜腔穿刺对乙型肝炎病毒母婴传播的影响[J]. 中华围产医学杂志, 2015, 18(11): 823-7.

[19] Towers CV, Asrat T, Rumney P. The presence of hepatitis B surface antigen and deoxyribonucleic acid in amniotic fluid and cord blood[J]. Am J Obstet Gynecol, 2001, 184(7): 1514-20.

[20] 汪雪雁, 李运星, 席 娜, 等. 乙肝病毒携带者羊水穿刺后羊水中HBV-DNA拷贝数分析[J]. 四川医学, 2014, 35(1): 7-9.